

PRODUCTION OF OPTICALLY ACTIVE 2-HALO-1-(SUBSTITUTED PHENYL) ETHANOL

Patent Number: JP11215995

Publication date: 1999-08-10

Inventor(s): YASOHARA YOSHIHIKO; SAWA IKUO; UEDA MAKOTO; HASEGAWA JUNZO; SHIMIZU AKIRA; KATAOKA MICHIIHIKO; WADA MASARU; KAWABATA JUN

Applicant(s): KANEGAFUCHI CHEM IND CO LTD

Requested
Patent: ☐ JP11215995Application
Number: JP19980020802 19980202Priority Number
(s):IPC
Classification: C12P7/22EC
Classification:

Equivalents:

Abstract

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain in an industrially advantageous way the subject compound useful as e.g. a raw material for medicines and agrochemicals or the like, by subjecting microorganisms having the ability to stereoselectively reduce a specific 2-halo-1-(substitutedphenyl)ethanone to the compound.

SOLUTION: This (R)-2-halo-1-(substituted phenyl)ethanol of formula II is obtained efficiently on an industrial scale by subjecting a 2-halo-1-(substituted phenyl) ethanone of formula I (X is Cl or Br; R1 to R3 are each H, Cl, F, methyl or methoxy, wherein excepting the case that all of R1 to R3 are H) to a culture fluid, microbial cells or a treated product thereof of microorganisms selected from the group consisting of those belonging to the genus *Ogataea* and the genus *Debaryomyces* and having the ability to produce the aimed (R)-2- halo-1-(substituted phenyl)ethanol of formula II (e.g. *Ogataea minuta* var. *minuta* IFO 0975) and collecting the resultant aimed compound of formula II.

Data supplied from the esp@cenet database - I2

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-215995

(43) 公開日 平成11年(1999) 8月10日

(51) Int.Cl.⁶

識別記号

F I

C 1 2 P 7/22

C 1 2 P 7/22

// (C 1 2 P 7/22

C 1 2 R 1:01)

(C 1 2 P 7/22

C 1 2 R 1:40)

審査請求 未請求 請求項の数11 O L (全 12 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号

特願平10-20802

(22) 出願日

平成10年(1998) 2月2日

(71) 出願人 000000941

鐘淵化学工業株式会社

大阪府大阪市北区中之島3丁目2番4号

(72) 発明者 八十原 良彦

兵庫県姫路市日出町3-7-2-605

(72) 発明者 澤 郁男

兵庫県高砂市高砂町浜田町1丁目3-23

(72) 発明者 上田 真

兵庫県神戸市垂水区塩屋町6-31-17

(72) 発明者 長谷川 淳三

兵庫県明石市大久保町町高丘2丁目13-4

(72) 発明者 清水 昌

京都府京都市右京区常磐山下町6-9

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 光学活性2-ハロ-1-(置換フェニル) エタノールの製造法

(57) 【要約】

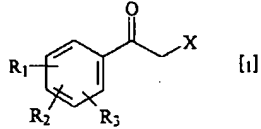
【課題】 医薬品、農業等の合成中間体である光学活性2-ハロ-1-(置換フェニル) エタノールを効率的にかつ工業的規模で製造すること。

【解決手段】 オガタエア属等に属する微生物の培養液、菌体、菌体処理物等を2-ハロ-1-(置換フェニル) エタノンに作用させ、不斉還元して生成する光学活性2-ハロ-1-(置換フェニル) エタノールを得ること。

【特許請求の範囲】

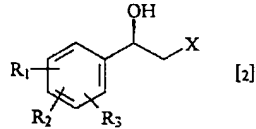
【請求項 1】 一般式 [1]

【化 1】



(式中、Xは塩素原子又は臭素原子を示し、置換基R1、R2、R3は水素原子、塩素原子、フッ素原子、メチル基、メトキシ基を示す。ただし、置換基すべてが水素原子の場合は除く。)で示される2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノンを、一般式 [2]

【化 2】

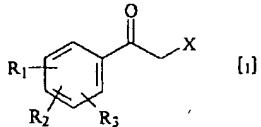


(式中、X及び置換基R1、R2、R3は一般式 [1] と同じ。)で示される(R)-2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノールを生成する能力を有するオガタエ属、デバリオマイセス属に属する微生物群の中から選ばれた微生物の培養液、菌体または菌体処理物に作用させ、生成する一般式 [2] で示される(R)-2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノールを採取することと特徴とする(R)-2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノールの製造法。

【請求項 2】 微生物が、オガタエ・ミニュータ・バー・ミニュータ、オガタエ・ミニュータ・バー・ノンファーメンタンス、デバリオマイセス・カルソニーからなる群から選ばれた微生物である、請求項 1 記載の製造法。

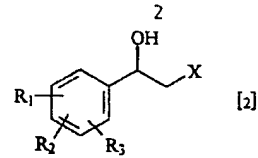
【請求項 3】 一般式 [1]

【化 3】



(式中、Xは塩素原子又は臭素原子を示し、置換基R1、R2、R3は水素原子、塩素原子、フッ素原子、メチル基、メトキシ基を示す。ただし、置換基すべてが水素原子の場合は除く。)で示される2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノンを、一般式 [2]

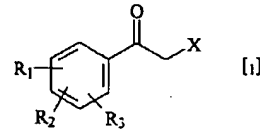
【化 4】



(式中、X及び置換基R1、R2、R3は一般式 [1] と同じ。)で示される(R)-2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノールを生成する能力を有するキャンディダ・パラブシロシスまたはキャンディダ・ツェイラノイデスから選ばれた微生物の培養液、菌体または菌体処理物に作用させ、生成した一般式 [2] で示される(R)-2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノールを採取することと特徴とする(R)-2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノールの製造法。

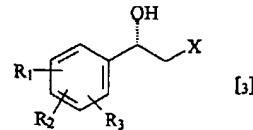
【請求項 4】 一般式 [1]

【化 5】



(式中、Xは塩素原子又は臭素原子を示し、置換基R1、R2、R3は水素原子、塩素原子、フッ素原子、メチル基、メトキシ基を示す。ただし、置換基すべてが水素原子の場合は除く。)で示される2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノンを、一般式 [3]

【化 6】

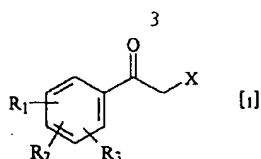


(式中、X及び置換基R1、R2、R3は一般式 [1] と同じ。)で示される(S)-2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノールを生成する能力を有するヤマダジマ属、シュードモナス属、ブレバンディモナス属、クリプトコッカス属に属する微生物群の中から選ばれた微生物の培養液、菌体または菌体処理物に作用させ、生成した一般式 [3] で示される(S)-2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノールを採取することと特徴とする(S)-2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノールの製造法。

【請求項 5】 微生物が、ヤマダジマ・ファリノサ、シュードモナス・ブチダ、ブレバンジモナス・ディミヌータ、クリプトコッカス・フミコラスからなる群から選ばれた微生物である、請求項 4 記載の製造法。

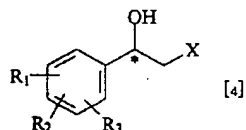
【請求項 6】 一般式 [1]

【化 7】



(式中、Xは塩素原子又は臭素原子を示し、置換基R1、R2、R3は水素原子、塩素原子、フッ素原子、メチル基、メトキシ基を示す。ただし、置換基すべてが水素原子の場合は除く。)で示される2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノンを、一般式[4]

【化8】



(式中、X及び置換基R1、R2、R3は一般式[1]と同じ、*は不斉炭素原子を示す。)で示される2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノールを生成する能力を有する還元酵素に作用させ、生成した一般式[4]で示される光学活性2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノールを採取することを特徴とする光学活性2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノールの製造法。

【請求項7】還元酵素が、4-クロロアセト酢酸エチルを還元する酵素である、請求項6記載の製造法。

【請求項8】4-クロロアセト酢酸エチルを還元する酵素が、キャンディダ属に属する微生物から得られる酵素である、請求項7記載の製造法。

【請求項9】以下の(1)から(5)の理化学的性質を有するカルボニル還元酵素S4:

(1)作用:NADPHを補酵素として、4-クロロアセト酢酸エチルに作用し、(S)-4-クロロ-3-ヒドロキシ酪酸エチルを生成する。

(2)基質特異性:4-クロロアセト酢酸エチルに活性を示し、ケトバントイルラクトンに対して強い活性を示す。

(3)至適pH:pH6.0。

(4)至適温度:50℃。および

(5)分子量:ゲル濾過分析において約86000、SDSポリアクリルアミド電気泳動分析において約29000。

【請求項10】一般式[1]から一般式[2]を生成する能力を有する還元酵素が、カルボニル還元酵素S4である、請求項6記載の製造法。

【請求項11】一般式[1]から一般式[3]を生成する能力を有する還元酵素が、以下の(1)から(7)の理化学的性質を有するカルボニル還元酵素S1である、請求項6記載の製造法:

(1)作用:NADPHを補酵素として、4-クロロアセト酢酸エチルに作用し、(S)-4-クロロ-3-ヒ

ドロキシ酪酸エチルを生成する。

(2)基質特異性:4-クロロアセト酢酸エチルに対して強い活性を示し、アセト酢酸エチルには実質的に活性を示さない。

(3)至適pH:pH5.5~6.5。

(4)至適温度:50~55℃。

(5)分子量:ゲル濾過分析において約76000、SDSポリアクリルアミド電気泳動分析において約32000。

(6)熱安定性:pH7.0で30分間処理したときに約40℃まで安定である。および

(7)阻害剤:水銀イオン、ケルセチンにより阻害される。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、光学活性2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノールの製造法に関する。更に詳しくは光学活性2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノールは、光学活性を必要とする医薬品、農薬等の合成原料として有用な光学活性置換スチレンオキサイドへ極めて容易に誘導することができる化合物であり、特に、光学活性3'-クロロスチレンオキサイドは、抗肥満薬の合成中間体として重要な化合物である。

【0002】

【従来の技術】光学活性2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノールの製造方法として知られているものとしては、2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノールに微生物を作用させることにより製造する方法が開示されている(特開平4-218384)が、この方法により製造できる化合物の立体配置は(-)体すなわち(R)体のみである。また、基質の仕込み濃度が低く実用的とはいえない。一方、光学活性スチレンオキサイドの製造方法については、光学活性2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノールをアルカリ条件下で開環する方法が開示されている(特開平4-218384)。また、クロロ置換スチレンのノカルディア・コラリーナによるエポキシ化により72~86%eeを得たという報告(有機合成化学、43、162(1987))がある。また、クロロ置換ベンズアルデヒドとジメチルスルホニウムメチリドとの相間移動触媒反応によって合成する方法があるが、光学純度が極めて低い(特開昭51-105024)。

【0003】

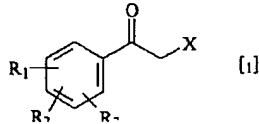
【発明が解決しようとする課題】本発明者らは、光学活性2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノールの効率的な製造法を開発すべく検討を重ねた結果、2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノールを立体選択的に還元し、光学活性2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノールに変換する能力を有するいままでに報告例のない酵素源を発見し、本発明を完成するに至った。

【0004】

【課題を解決するための手段】本発明者らは上記課題を解決すべくを鋭意検討した結果、本発明を完成するに至った。即ち、本発明の第1は、一般式〔1〕

【0005】

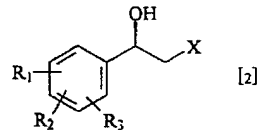
【化9】



【0006】（式中、Xは塩素原子又は臭素原子を示し、置換基R1、R2、R3は水素原子、塩素原子、フッ素原子、メチル基、メトキシ基を示す。ただし、置換基すべてが水素原子の場合は除く。）で示される2-ハロ-1-（置換フェニル）エタノンを、一般式〔2〕

【0007】

【化10】

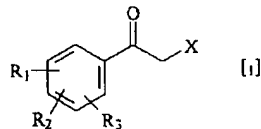


【0008】（式中、X及び置換基R1、R2、R3は一般式〔1〕と同じ。）で示される（R）-2-ハロ-1-（置換フェニル）エタノールを生成する能力を有するオガタエア属、デバリオマイセス属に属する微生物群の中から選ばれた微生物の培養液、菌体または菌体処理物に作用させ、生成する一般式〔2〕で示される（R）-2-ハロ-1-（置換フェニル）エタノールを採取することを特徴とする（R）-2-ハロ-1-（置換フェニル）エタノールの製造法に関する。

【0009】本発明の第2は、一般式〔1〕

【0010】

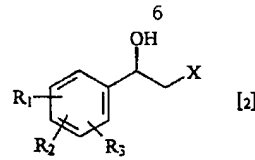
【化11】



【0011】（式中、Xは塩素原子又は臭素原子を示し、置換基R1、R2、R3は水素原子、塩素原子、フッ素原子、メチル基、メトキシ基を示す。ただし、置換基すべてが水素原子の場合は除く。）で示される2-ハロ-1-（置換フェニル）エタノンを、一般式〔2〕

【0012】

【化12】

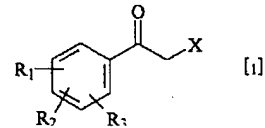


【0013】（式中、X及び置換基R1、R2、R3は一般式〔1〕と同じ。）で示される（R）-2-ハロ-1-（置換フェニル）エタノールを生成する能力を有するキャンディダ・パラブシロシスまたはキャンディダ・ツェイラノイデスから選ばれた微生物の培養液、菌体または菌体処理物に作用させ、生成した一般式〔2〕で示される（R）-2-ハロ-1-（置換フェニル）エタノールを採取することを特徴とする（R）-2-ハロ-1-（置換フェニル）エタノールの製造法に関する。

【0014】本発明の第3は、一般式〔1〕

【0015】

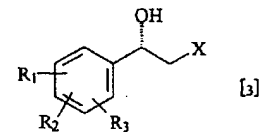
【化13】



【0016】（式中、Xは塩素原子又は臭素原子を示し、置換基R1、R2、R3は水素原子、塩素原子、フッ素原子、メチル基、メトキシ基を示す。ただし、置換基すべてが水素原子の場合は除く。）で示される2-ハロ-1-（置換フェニル）エタノンを、一般式〔3〕

【0017】

【化14】

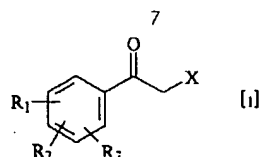


【0018】（式中、X及び置換基R1、R2、R3は一般式〔1〕と同じ。）で示される（S）-2-ハロ-1-（置換フェニル）エタノールを生成する能力を有するヤマダジーマ属、シュードモナス属、ブレバンディモナス属、クリプトコッカス属に属する微生物群の中から選ばれた微生物の培養液、菌体または菌体処理物に作用させ、生成した一般式〔3〕で示される（S）-2-ハロ-1-（置換フェニル）エタノールを採取することを特徴とする（S）-2-ハロ-1-（置換フェニル）エタノールの製造法に関する。

【0019】本発明の第4は、一般式〔1〕

【0020】

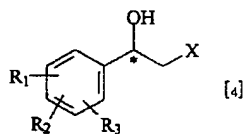
【化15】



【0021】(式中、Xは塩素原子又は臭素原子を示し、置換基R1、R2、R3は水素原子、塩素原子、フッ素原子、メチル基、メトキシ基を示す。ただし、置換基すべてが水素原子の場合は除く。)で示される2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノンを、一般式[4]

【0022】

【化16】



【0023】(式中、X及び置換基R1、R2、R3は一般式[1]と同じ、*は不斉炭素原子を示す。)で示される2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノールを生成する能力を有する還元酵素に作用させ、生成した一般式[4]で示される光学活性2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノールを採取することを特徴とする光学活性2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノールの製造法に関する。

【0024】本発明の第5は、以下の(1)から(5)の理化学的性質を有するカルボニル還元酵素S4:

(1)作用: NADPHを補酵素として、4-クロロアセト酢酸エチルに作用し、(S)-4-クロロ-3-ヒドロキシ酪酸エチルを生成する。

(2)基質特異性: 4-クロロアセト酢酸エチルに活性を示し、ケトバントイルラクトンに対して強い活性を示す。

(3)至適pH: pH6.0、

(4)至適温度: 50℃、および

(5)分子量: ゲル濾過分析において約86000、SDSポリアクリルアミド電気泳動分析において約29000、に関する。

【0025】

【発明の実施の形態】以下、本発明について詳述する。本発明に用いる2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノンを不斉還元し、2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノールに変換する微生物は、以下に説明する方法によって見出すことができる。例えば、グルコース5%、ペプトン0.5%、リン酸二水素カリウム0.2%、リン酸水素二カリウム0.1%、硫酸マグネシウム0.02%、酵母エキス0.1%の組成からなるA培地50ml(pH6.5)を500ml容坂口フラスコに入れ殺菌後、微生物を植え、30℃で2~3日間振とうする。その後、菌体を遠心分離により集め2-クロロ-1-

(3'-クロロフェニル)エタノン0.1~0.5%およびグルコース5%を含んだリン酸緩衝液25mlに懸濁し、500ml容坂口フラスコ中で2~3日間30℃で振とうする。この際、遠心分離により得た菌体をデシケーター中またはアセトンにより乾燥したものをを用いることもできる。さらに、これら微生物もしくはその処理物と2-クロロ-1-(3'-クロロフェニル)エタノンを反応させる際に、酸化型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(NAD)および/または酸化型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸(NADP)とグルコース脱水素酵素を添加してもよい。変換反応ののち反応液と同体積の酢酸エチルを加え抽出を行ない生成する2-クロロ-1-(3'-クロロフェニル)エタノールを高速度液体クロマトグラフィー(カラム: ダイセル化学工業株式会社製Chiralcel OJ、溶離液: n-ヘキサン/イソプロパノール=39/1、流速: 1ml/min、検出: 210nm、カラム温度: 室温、溶出時間2-クロロ-1-(3'-クロロフェニル)エタノン: 28分、(R)-2-クロロ-1-(3'-クロロフェニル)エタノール: 37分、(S)-2-クロロ-1-(3'-クロロフェニル)エタノール: 45分)により分析する。本発明に使用しうる微生物としては、2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノンを不斉還元して光学活性な2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノールに変換する能力を有する微生物としてオガタエ属、デバリオマイセス属、キャンディダ属、ヤマダジマ属、シュードモナス属、ブレバンディモナス属、クリプトコッカス属に属する微生物が使用しうるが、具体的には例えば、オガタエ・ミニュータ・バー・ミニュータ(*Ogataea minuta* var. *minuta*) IFO 0975、オガタエ・ミニュータ・バー・ノンファーメンタンス(*Ogataea minuta* var. *nonfermentans*) IFO 1473、デバリオマイセス・カルソニー(*Debaryomyces carsonii*) IFO 0946、キャンディダ・パラブシロシス(*Candida parapsilosis*) IFO 0585、キャンディダ・ツェイラノイデス(*Candida zeylanoides*) IFO 0719、ヤマダジマ・ファリノサ(*Yamadazyma farinosa*) IFO 0459、ヤマダジマ・ファリノサ(*Yamadazyma farinosa*) IFO 0193、シュードモナス・ブチダ(*Pseudomonas putida*) IFO 12966、ブレバンディモナス・ディミニュータ(*Brevundimonas diminuta*) IFO 12697、クリプトコッカス・フミコラス(*Cryptococcus humicola*) IFO 0760、クリプトコッカス・フミコラス(*Cryptococcus humicolus*) JCM1460などを用いることができる。これら微生物は一般に、入手または購入が容易な保存株から得ることができる。また、自然界から分離することもできる。なお、これらの微生物に変異を生じさせてより本反応に有利な性質を有する菌株を得ることもできる。これらの微生物の培養には、通常これらの微生物が資化しうる栄養源であれば何でも使用しうる。たとえば、グルコース、シュクロース、マルトース等の糖

類、乳酸、酢酸、クエン酸、プロピオン酸等の有機酸類、エタノール、グリセリン等のアルコール類、パラフィン等の炭化水素類、大豆油、菜種油等の油脂類、またはこれらの混合物等の炭素源や、硫酸アンモニウム、リン酸アンモニウム、尿素、酵母エキス、肉エキス、ペプトン、コーンスチープリカー等の窒素源を混合することもできる。更に、その他の無機塩、ビタミン類等の栄養源を適宜混合することもできる。微生物の培養は通常一般の条件により行なうことができ、例えば、pH 4.0～9.5、温度範囲20℃～45℃の範囲で、好気的に10～96時間培養する。2-ハロ-1-（置換フェニル）エタノンに微生物を反応させる場合においては、通常、上記微生物の培養液をそのまま反応に使用することもできるが、培養液の濃縮物も用いることができる。また、培養液中の成分が反応に悪影響を与える場合には、培養液を遠心分離等により処理して得られる菌体または菌体処理物を使用することが好ましい。上記微生物の菌体処理物としては特に限定されず、例えば、アセトンや五酸化ニリンによる脱水処理またはデシケーターや扇風機を利用した乾燥によって得られる乾燥菌体、界面活性剤処理物、溶菌酵素処理物、固定化菌体または菌体を破碎した無細胞抽出標品などをあげることができる。更に、培養物より不斉還元反応を触媒する酵素を精製し、これを使用してもよい。一般式〔1〕に示される2-ハロ-1-（置換フェニル）エタノンを一般式〔2〕、または〔3〕に示される光学活性な2-ハロ-1-（置換フェニル）エタノールに変換する能力を有する微生物の培養液、菌体あるいは菌体処理物、または当該能力を有する微生物から得られる当該活性を有する酵素を以下「酵素源」という。また、微生物の培養液、菌体または菌体処理物としての当該能力の強弱に関係なく、その微生物より得られた酵素が当該活性を有していれば、その酵素をも酵素源とすることができる。こうした酵素としては、たとえば、4-クロロアセト酢酸エチルを還元して4-クロロ-3-ヒドロキシ酪酸エチルを与える酵素を用いることができる。この還元反応を触媒する酵素としては、キャンディダ属に属する微生物から得られる酵素であることが好ましい。酵素源は多くの場合微生物から得ることができる。微生物の培養物からの酵素の抽出精製には、当業者に通常用いられている酵素の抽出精製法が用いられ得る。たとえば、培養液から遠心分離により菌体を集め、これを適当な緩衝液中に懸濁し、該菌体をガラスビーズ等の物理的手法、酵素等の生化学的手法などを用いて破碎または溶解したのち遠心分離により該溶液中の不溶物を除去して、粗酵素液を得ることができる。該粗酵素液を通常当業者が用いる方法、たとえば、硫酸アンモニウム沈殿、透析、クロマトグラフィーを単独または組み合わせて用いてさらに精製し得る。こうした粗酵素液を含む酵素精製操作の各段階の酵素画分が当該反応を触媒する場合、これらを酵素源として使用する

ことができる。また、当該反応を触媒する酵素遺伝子を単離し、遺伝子工学的手法により得られる組み換え微生物の培養液、菌体または菌体処理物もまた酵素源として使用可能である。このようにして得られる当該反応を触媒する酵素としては、たとえば、PCT/JP97/03051記載のキャンディダ属に属する微生物から得られる以下の（1）から（7）の理化学的性質を有する酵素S1を例示することができる。

- （1）作用：NADPHを補酵素として、4-クロロアセト酢酸エチルに作用し、（S）-4-クロロ-3-ヒドロキシ酪酸エチルを生成する、
- （2）基質特異性：4-クロロアセト酢酸エチルに対して強い活性を示し、アセト酢酸エチルには実質的に活性を示さない、
- （3）至適pH：pH5.5～6.5、
- （4）至適温度：50～55℃、
- （5）分子量：ゲル濾過分析において約76000、SDSポリアクリルアミド電気泳動分析において約32000、
- （6）熱安定性：pH7.0で30分間処理したときに約40℃まで安定である、および
- （7）阻害剤：水銀イオン、クエルセチンにより阻害される。

【0026】また、以下の（1）から（5）の理化学的性質を有するキャンディダ属微生物由来のカルボニル還元酵素S4も例示することができる。

- （1）作用：NADPHを補酵素として、4-クロロアセト酢酸エチルに作用し、（S）-4-クロロ-3-ヒドロキシ酪酸エチルを生成する、
- （2）基質特異性：4-クロロアセト酢酸エチルに活性を示し、ケトバントイルラクトンに対して強い活性を示す、
- （3）至適pH：pH6.0、
- （4）至適温度：50℃、および
- （5）分子量：ゲル濾過分析において約86000、SDSポリアクリルアミド電気泳動分析において約29000。

還元反応の際には、基質である2-ハロ-1-（置換フェニル）エタノンを反応の初期に一括して添加してもよく、反応の進行にあわせて分割して添加してもよい。また、反応時の温度は通常10～60℃、好ましくは、20～40℃であり、反応時のpHは2.5～9、好ましくは、5～9である。反応液中の酵素源の量はこれらの基質を還元する能力に応じ適宜決定すればよい。また、反応液中の基質濃度は0.01～50%（W/V）が好ましく、より好ましくは、0.1～30%である。反応は通常、振とうまたは通気攪拌しながら行なう。反応時間は基質濃度、酵素源の量およびその他の反応条件により適宜決定される。通常、2～168時間で反応が終了するように各条件を設定することが好ましい。還元反応

を促進させるために、反応液にグルコース、エタノールなどのエネルギー源を1〜30%の割合で加えると優れた結果が得られるので好ましい。また、一般に生物学的方法による還元反応に必要とされている還元型ニコチンアミド・アデニンジヌクレオチド(NADH)、還元型ニコチンアミド・アデニンジヌクレオチドリ酸(NADPH)等の補酵素を添加することにより、反応を促進させることもできる。具体的には、反応液に直接これらを添加してもよく、NADH、NADPHを生成する反応系を酸化型の補酵素とともに反応液に添加してもよい。例えば、ギ酸脱水素酵素がギ酸から二酸化炭素と水とを生成する際にNADをNADHに還元する反応系や、グルコース脱水素酵素がグルコースからグルコノラクトンを生成する際にNADまたはNADPをNADHまたはNADPHにそれぞれ還元する反応系を利用することができる。また、トリトン(ナカライテスク株式会社製)、スパン(関東化学株式会社製)、ツイーン(ナカライテスク株式会社製)などの界面活性剤を反応液に添加することも効果的である。さらに、基質および/または還元反応の生成物であるアルコール体による反応の阻害を回避する目的で、酢酸エチル、酢酸ブチル、イソプロピルエーテル、トルエンなどの水に不溶な有機溶媒を反応液に添加してもよい。さらに、基質の溶解度を高める目的で、メタノール、エタノール、アセトン、テトラヒドロフラン、ジメチルスルホキシドなどの水に可溶な有機溶媒を添加することもできる。還元反応により生成した光学活性な2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノールの採取は、反応液から直接、あるいは菌体等を分離後、酢酸エチル、n-ヘキサン等の溶剤で抽出し、脱水後、蒸留あるいはシリカゲルカラムクロマトグラフィー等により精製すれば高純度の光学活性2-ハロ-1-*

* (置換フェニル)エタノールが容易に得られる。

【0027】上記の如くして得られた光学活性な2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノールは、苛性ソーダ等のアルカリを等モル以上共存させ、加熱あるいは室温放置することにより容易に閉環し、光学活性な置換スチレンオキサイドに変換される。

【0028】

【実施例】以下、実施例により本発明をさらに詳しく説明するが、本発明はこれらの実施例により何ら限定されるものではない。なお、以下の記載において、「%」は特に断らない限り「重量%」を意味する。

実施例1

前記のA培地50mlを500ml容坂口フラスコに入れ殺菌後、表1に示す微生物をそれぞれ植菌した。そして30℃で2日間好氣的に振とう培養を行なった。この培養液から遠心分離によって菌体を集め、2-クロロ-1-(3'-クロロフェニル)エタノン1%、酸化型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(NAD)0.06%、酸化型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリ酸(NADP)0.06%、グルコース5%、グルコース脱水素酵素(商品名:GLUCDH™ Amano™ II、天野製薬株式会社製)14.3U/mlを含有する50mMリン酸緩衝液(pH6.0)20mlに懸濁し、500ml容坂口フラスコに入れて30℃、24時間振とう反応させた。反応後、反応液から同体積の酢酸エチルで光学活性2-クロロ-1-(3'-クロロフェニル)エタノールを2回抽出し、酢酸エチル層を高速液体クロマトグラフィーで分析して、反応率および光学純度を測定した。その結果を表1に示す。

【0029】

【表1】

微生物	反応率(%)	光学純度(%ee)	立体配置
ヤマダジマ・ファリノサ (Yamadazyma farinosa) IF00459	58	100	(S)
ヤマダジマ・ファリノサ (Yamadazyma farinosa) IF00193	54	100	(S)
オガタエア・ミニュータ・バー・ミニュータ (Ogataea minuta var. minuta) IF00975	43	90	(R)
オガタエア・ミニュータ・バー・ノンファーメンタンス (Ogataea minuta var. nonfermentans) IF01473	50	100	(R)
デバリオマイセス・カルソニー (Debaryomyces carsonii) IF00946	13	68	(R)
キャンディダ・パラブシロシス (Candida parapsilosis) IF00585	52	100	(R)
キャンディダ・ツェイラノイデス (Candida zeylanoides) IF00719	43	81	(R)

【0030】実施例2

表2に示す微生物について、グルコース1%、ペプトン1.5%、リン酸水素二カリウム0.3%、硫酸マグネシウム0.02%、塩化ナトリウム0.2%、酵母エキス0.1%の組成からなるB培地(pH7.0)を用い※

40※ たはかは実施例1と同様の操作を行ない、反応率および光学純度を測定した。その結果を表2に示す。

【0031】

【表2】

微生物	反応率(%)	光学純度(%ee)	立体配置
シュドモナス・プチダ (Pseudomonas putida) IF012966	55	100	(S)
ブレバンジモナス・ディミニュータ (Brevundimonas diminuta) IF012697	81	83	(S)

【0032】実施例3

A培地50mlを含む500ml容坂口フラスコ20本に、オガタエア・ミニュータ・バー・ノンファーメンタ

ンス(Ogataea minuta var. nonfermentans) IF01473を植菌し、30℃で48時間振とう培養した。培養後菌体を遠心分離により集菌し、これにグルコース40g、NA

DP 240 mg、NAD 240 mg、グルコース脱水素酵素（商品名：GLUCDH™ Amano™ II、天野製薬株式会社製）80 mgを含む50 mMリン酸緩衝液（pH 6.0）を加えて全量を800 mlとした。さらに、基質である2-クロロ-1-（3'-クロロフェニル）エタノンを1.6 g加えて還元反応を開始した。反応は30℃で、2M炭酸ナトリウム水溶液により反応液のpHを6.0に調整しながら攪拌しつつ行なった。反応液の一部を定期的にHPLCにより分析し、基質が枯渇している場合にはさらに基質1.6 gを追加し反応を継続させた。この操作を繰り返しつつ約50時間反応を行なった。反応終了時のHPLC分析の結果によると、反応液の2-クロロ-1-（3'-クロロフェニル）エタノールの濃度は9.8 mg/mlであった。反応終了後、1000 mlの酢酸エチルで2回抽出した。酢酸エチル層を無水硫酸ナトリウムで乾燥したのち、減圧下脱溶剤し、オイル状物質を得た。このものを減圧蒸留（130℃/3 mmHg）し、無色オイル状の（R）-2-クロロ-1-（3'-クロロフェニル）エタノール8.8 gを得た。その比旋光度は $[\alpha]_D^{20} = -33.6^\circ$ （ $c = 1.02$ ）を示し、HPLC分析によれば光学純度99.3% eeであった。H-NMR（CDCl₃） δ ppm 2.69(br, s, 1H), 3.27~3.90(m, 2H), 4.88(dd, 1H), 7.15~7.54(m, 4H)

実施例4

A培地50 mlを含む500 ml容坂口フラスコ20本に、ヤマダジマ・ファリノサ(Yamadazyma farinosa) IFO 0459を接種し、30℃で48時間振とう培養した。培養後菌体を遠心分離により集菌し、これにグルコース40 g、NADP 240 mg、NAD 240 mg、グルコース脱水素酵素（商品名：GLUCDH™ Amano™ II、天野製薬株式会社製）80 mgを含む50 mMリン酸緩衝液（pH 6.0）を加えて全量を800 mlとした。さらに、基質である2-クロロ-1-（3'-クロロフェニル）エタノンを1.6 g加えて還元反応を開始した。実施例3と同様の操作により還元反応を約50時間行なった。反応終了時のHPLC分析の結果によると、反応液の2-クロロ-1-（3'-クロロフェニル）エタノールの濃度は11.8 mg/mlであった。反応終了後、1000 mlの酢酸エチルで2回抽出した。酢酸エチル層を無水硫酸ナトリウムで乾燥したのち、減圧下脱溶剤し、オイル状物質を得た。このものを減圧蒸留（130℃/3 mmHg）し、無色オイル状の（S）-2-クロロ-1-（3'-クロロフェニル）エタノール10.6 gを得た。その比旋光度は $[\alpha]_D^{20} = 33.5^\circ$ （ $c = 1.02$ ）を示し、HPLC分析によれば光学純度99.1% eeであった。H-NMR（CDCl₃） δ ppm 2.69(br, s, 1H), 3.27~3.90(m, 2H), 4.88(dd, 1H), 7.15~7.54(m, 4H)

実施例5

B培地50 mlを含む500 ml容坂口フラスコ20本に、ブレバンディモナス・ディミニータ(Brevundimonas diminuta) IFO 12697を接種し、30℃で24時間振とう培養した。培養後菌体を遠心分離により集菌し、これにグルコース40 g、NADP 240 mg、NAD 240 mg、グルコース脱水素酵素（商品名：GLUCDH™ Amano™ II、天野製薬株式会社製）80 mgを含む50 mMリン酸緩衝液（pH 6.0）を加えて全量を800 mlとした。さらに、基質である2-クロロ-1-（3'-クロロフェニル）エタノンを1.6 g加えて還元反応を開始した。実施例3と同様の操作により還元反応を約50時間行なった。反応終了時のHPLC分析の結果によると、反応液の（S）-2-クロロ-1-（3'-クロロフェニル）エタノールの濃度は18.4 mg/ml、光学純度は84.2% eeであった。

実施例6

A培地8000 mlを調製し、2000 ml容坂口フラスコに400 mlずつ分注して、120℃で20分間蒸気殺菌した。これらの培地にあらかじめ同培地中で前培養しておいたオガタエア・ミニュータ・バー・ノンファーマンタンス(Ogataea minuta var. nonfermentans) IFO 1473の培養液を5 mlずつ接種し、30℃で2日間振とう培養した。この培養液から遠心分離により菌体を集め、生理食塩水にて2回洗浄した。得られた湿菌体を400 mlの50 mMリン酸緩衝液（pH 7.0）に懸濁し、次いで菌体をダイノミル(Dynomil社製)で破砕した。この菌体破砕物から遠心分離にて菌体残渣を除き、無細胞抽出液700 mlを得た。大型試験管に、2-クロロ-1-（3'-クロロフェニル）エタノール100 mg、NADP 0.6 mg、グルコース500 mg、グルコース脱水素酵素（商品名：GLUCDH™ Amano™ II、天野製薬株式会社製）143 Uを秤取り、これに調製した無細胞抽出液10 mlを加えて、30℃で24時間振とう反応させた。反応後、反応液を10 mlの酢酸エチルで2回抽出し、得られた有機層を実施例1に示した方法により分析したところ、2-クロロ-1-（3'-クロロフェニル）エタノールへの反応率は60%、その光学純度は99.3%、立体配置は（R）体であった。

40 参考例1 キャンディダ属微生物からの酵素S1の調製
酵素活性の測定は、200 mMリン酸緩衝液（pH 7.0）に、基質4-クロロアセト酢酸エチル0.2 mM、補酵素NADPH 0.32 mMおよび酵素を添加し、30℃で波長340 nmの吸光度の減少を測定することにより行なう。この反応条件において、1分間に1 μ molのNADPHをNADPに酸化する酵素活性を1 unitと定義する。また、酵素反応により生成した4-クロロ-3-ヒドロキシ酪酸エチルの光学純度の測定は、光学分割カラムCHIRALCEL OB（ダイセル化学工業株式会社製）を用いたHPLC分析により行なう

(移動相：ヘキサン／イソプロパノール＝9／1、流速：0.8 ml/min、カラム温度：0℃、検出：215 nm)。

【0033】以下の組成からなる液体培地8000 mlを調製し、2000 ml容坂口フラスコに400 mlずつ分注して、120℃で20分間蒸気殺菌した。

培地組成：

グルコース 5%
ポリペプトン 0.5%
KH₂PO₄ 0.2%
K₂HPO₄ 0.1%
MgSO₄／7H₂O 0.02%

水道水

pH 6.5

これらの培地に、あらかじめ同培地にて前培養しておいたキャンディダ・マグノリエ(*Candida magnoliae* IFO 0705)の培養液を5 mlずつ接種し、30℃で3日間振とう培養した。遠心分離によりこの培養液から菌体を集め、生理食塩水にて2回洗浄を行ない、湿菌体230 gを得た。このうち180 gを360 mlの50 mMりん酸緩衝液(pH 7.0)に懸濁した後、菌体をダイノミル(Dyno-Mill社製)で破碎した。この菌体破碎物を遠心分離して残さを除き、無細胞抽出液760 mlを得た。この無細胞抽出液に40%飽和となるように硫酸アンモニウムを添加し、生じた沈殿を遠心分離により除去し、上清を0.1% DTTを含む10 mMりん酸緩衝液(pH 7.0)に対して一晩透析した。これを同一緩衝液であらかじめ平衡化したDEAE sephacel(Pharmacia Biotech社製)カラムに供し、同緩衝液でカラムを洗浄した。素通りしてくる溶液から活性画分を回収し、終濃度4 MとなるようにNaClを添加した。この活性画分を4 MのNaClと0.1 mMのDTTを含む10 mMりん酸緩衝液(pH 7.0)であらかじめ平衡化しておいたPhenyl sepharose CL-4B(Pharmacia Biotech社製)カラムに供し、酵素を吸着させた。同一緩衝液でカラムを洗浄した後、10 mMりん酸緩衝液(pH 7.0)を用い、NaCl(4 Mから0 Mまで)およびエチレングリコール(0%から50%(W/V)まで)のリニアグラジエントにより、活性画分を溶出させた。これを10 mMりん酸緩衝液(pH 7.0)に対して一晩透析した。この透析液を、0.1 mM DTTを含む10 mMりん酸緩衝液(pH 7.0)であらかじめ平衡化しておいたMono Q HR5/5(Pharmacia Biotech社製)カラムに供し、同一緩衝液で洗浄した。洗浄液中の活性画分を集め、限外濾過にて濃縮し、0.2 M NaClおよび0.1 mM DTTを含む10 mMりん酸緩衝液(pH 7.0)にてあらかじめ平衡化しておいたSuperdex 200 HR10/30(Pharmacia Biotech社製)カラムに供し、同緩衝液で溶出した。活性画分を集め精製酵素標品とした。

参考例2 キャンディダ属微生物から得られた酵素S 1

の酵素化学的性質

酵素活性の測定は、基本的には、200 mMりん酸緩衝液(pH 7.0)に、基質4-クロロアセト酢酸エチル0.2 mM、補酵素NADPH 0.32 mM、および酵素溶液0.1 mlを含む3.0 mlの反応液中、30℃、1分間反応させ、波長340 nmの吸光度の減少を測定することにより行なった。

(1) 作用：NADPHを補酵素として、4-クロロアセト酢酸エチルに作用し、光学純度99% ee以上の(S)-4-クロロ-3-ヒドロキシ酪酸エチルを生成した。

(2) 基質特異性：表3に示す各種カルボニル化合物を基質として、4-クロロアセト酢酸エチルと同様の条件で反応を行なった結果、本酵素は表3に示すような基質特異性を示した。

【0034】

【表3】

基質(0.2 mM)	相対活性(%)
4-クロロアセト酢酸エチル	100
アセト酪酸エチル	0
o-ニトロベンズアルデヒド	0
m-ニトロベンズアルデヒド	0
p-ニトロベンズアルデヒド	0
o-クロロベンズアルデヒド	0
m-クロロベンズアルデヒド	0
p-クロロベンズアルデヒド	0
ニコチンアルデヒド	0
イソニコチンアルデヒド	0
ベンズアルデヒド	0
グリオキザール	0
メチルグリオキザール	0
ジアセチル	19
クロロアセトアルデヒド	0
カンファークノン	0
2-クロロアセト酢酸エチル	95
4-クロロアセト酢酸メチル	11
2-クロロアセト酢酸メチル	11
4-クロロアセト酢酸オクチル	36

【0035】(3) 至適pH：緩衝液としてりん酸緩衝液、トリス-塩酸緩衝液を用いてpH 5.0～8.5の範囲で、上記の方法により4-クロロアセト酢酸エチルを基質とした場合の酵素活性を測定した。その結果、至適pHは5.5～6.5であった。

(4) 作用至適温度：20～60℃の温度での1分間の、4-クロロアセト酢酸エチルを基質とした場合の活性を測定した。その結果、至適温度は50～55℃であった。

(5) 熱安定性：本酵素をpH 7.0において40℃で30分間加熱したのちの4-クロロアセト酢酸エチルを基質とした場合の活性を測定した。その結果加熱処理前の90%の活性が残存していた。

(6) 阻害剤：反応液に、表4に示す濃度の各種の化合物を添加して、4-クロロアセト酢酸エチルを基質とした場合の活性を測定した。表4に示すように、本酵素はクエルセチンおよび水銀イオンにより阻害をうけた。

【0036】

【表4】

化合物	添加量(mM)	相対活性(%)
無添加		100
クエルセチン(querceetin)	0.01	84
クエルセチン(querceetin)	0.1	0
ジフェニルヒダントイン	1	84
ジクマロール(dicoumarol)	0.1	97
2, 4-ジニトロフェノール	0.1	86
DTNB	0.05	100
ヨード酢酸	1	100
NEM	1	105
PMSF	1	93
p-CMB	1	88
EDTA	1	95
フェニルヒドラジン	1	97
塩化錳	1	77
塩化鉛	1	86
塩化カドミウム	1	91
塩化銅	1	85
塩化コバルト	1	89
塩化マグネシウム	1	83
硫化亜鉛	1	97
塩化水銀	0.1	49

【0037】(7) 分子量：酵素の分子量の測定は、TS K-G3000Wカラムを用い、溶離液として0.1M Na₂S O₄および0.05%Na N₃を含む100mMりん酸緩衝液(pH7.0)を用いた。この場合の分子量は約76000であった。酵素のサブユニットの分子量は、2%の2-メルカプトエタノール存在下、10%SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動分析により標準蛋白の相対移動度から算出した。その結果、本酵素のサブユニットの分子量は約32000であった。

(8) 有機溶媒耐性：本酵素が溶解しているpH7.0のりん酸緩衝液に同体積の酢酸エチルまたは酢酸ブチルを添加し、28℃で30分間振とうののち、遠心分離により水相と有機相を分離した。水相中の残存する酵素活性を4-クロロアセト酢酸エチルを基質として測定した。その結果、酢酸エチルを用いた場合では72%、酢酸ブチルを用いた場合には85%の酵素活性の残存が認められた。

実施例7 キャンディダ属微生物からの酵素S4の調製
参考例1と同様の操作により得られた無細胞抽出液1100mlに60gのポリエチレングリコールを攪拌しながら加え、添加後約2時間放置した。その後遠心分離により得られた上清を0.1mMDTTを含む10mMりん酸緩衝液(pH7.0)に対し透析し、同緩衝液で平衡化したDEAE sephacel(Pharmacia Biotech社製)カラムに供した。つぎに同緩衝液でカラムを洗浄ののち、NaClの0Mから0.2Mのリニアグラジエントにより活性画分を溶出させた。この画分を同緩衝液に対して透析ののち、2M硫酸アンモニウムを含む同緩衝液で平衡化したButyl toyopearl 650(東ソー社製)に供した。硫酸アンモニウムを含まない同緩衝液により活性画分を溶出し、限外濾過により脱塩および濃縮した。この酵素液を同緩衝液で平衡化したMono Q HR 10/10(Pharmacia Biotech社製)カラムに供した。0.25MのNaClにより活性画分を溶出し、同緩衝液に対して透析した。こ

れを、2M硫酸アンモニウムを含む同緩衝液で平衡化したAlkyl Superose HR 10/10(Pharmacia Biotech社製)に供した。エチレングリコールおよび硫酸アンモニウムによるリニアグラジエントにより溶出すると、目的の活性は前者の0%から10%および後者の2Mから0Mの画分に見い出され、これを精製酵素標品とした。

実施例8 キャンディダ属微生物から得られた酵素S4の酵素化学的性質

参考例2と同様の操作により酵素S4の諸性質を調べた。

(1) 作用：NADPHを補酵素として、4-クロロアセト酢酸エチルに作用し、光学純度51%eeの(S)-4-クロロ-3-ヒドロキシ酪酸エチルを生成する。

(2) 基質特異性：表5に示す各種カルボニル化合物を基質として、4-クロロアセト酢酸エチルと同様の条件で反応を行なった結果、表5に示すような基質特異性を示した。

【0038】

【表5】

基質(0.2mM)	相対活性(%)
4-クロロアセト酢酸エチル	100
2-クロロ-3-オキシ酪酸エチル	280
4-クロロアセト酢酸メチル	170
2-クロロ-3-オキシ酪酸メチル	370
ベンズアルデヒド	0
o-ニトロベンズアルデヒド	85
m-ニトロベンズアルデヒド	0
p-ニトロベンズアルデヒド	0
o-クロロベンズアルデヒド	24
m-クロロベンズアルデヒド	0
p-クロロベンズアルデヒド	0
ニコチンアルデヒド	0
イソニコチンアルデヒド	0
2-クロロ-1-(3'-クロロフェニル)エタノン	110
ケトバントイルラクトン	550
グリオキザール	0
メチルグリオキザール	0
カンファークノン	400

【0039】(3) 至適pH：緩衝液としてりん酸緩衝液、トリス塩酸緩衝液を用いてpH5.0~pH8.5の範囲で、参考例2の方法により酵素活性を測定した。その結果、4-クロロアセト酢酸エチルに作用する至適pHは6.0であった。

(4) 至適温度：20℃~60℃の温度で1分間の、4-クロロアセト酢酸エチルを基質とした場合の酵素の活性を測定して至適温度を求めたところ、50℃であった。

(5) 分子量：酵素の分子量の測定は、参考例2の方法により行ない、ゲル濾過分析により約86000、SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動分析により、約29000と算出された。

実施例9

参考例1で精製した酵素S1を5units、2-クロロ-1-(3'-クロロフェニル)エタノン25mg、NADP0.16mg、グルコース28mg、グルコース脱水素酵素(商品名：GLUCDH"Amamo" I

I. 天野製薬株式会社製) 6 unitsを含む100 mMリン酸緩衝液(pH 6.5) 2.5 mlを、30℃で24時間攪拌した。反応液を酢酸エチルで抽出し、脱溶剤したのち抽出物の分析を行なうと、反応率80%、光学純度99% ee以上の(S)-2-クロロ-1-(3'-クロロフェニル)エタノールが生成していた。

実施例10

実施例7で精製した酵素S4を用いて、実施例9と同様の操作を行ない、反応物を分析したところ、反応率50%、光学純度91% eeの(R)-2-クロロ-1-(3'-クロロフェニル)エタノールが生成していた。

実施例11

A培地50 mlを500 ml容坂口フラスコに入れ殺菌後、表6に示す微生物をそれぞれ植菌した。30℃で2 *

* 日間好氣的に振とう培養を行なった。この培養液から菌体を遠心分離によって集め、2-ブロモ-1-(3'-クロロフェニル)エタノン0.5%を0.3%グルコース含有100 mMリン酸緩衝液(pH 7.0) 25 mlに懸濁し、500 ml容坂口フラスコに入れて30℃で48時間振とう反応させた。反応後、反応液から等量の酢酸エチルで2-ブロモ-1-(3'-クロロフェニル)エタノールを抽出し、酢酸エチル層をガスクロマトグラフィーで分析し、反応率を調べた。また、実施例1と同じ方法により光学純度を測定した。これらの結果を表6に示した。

【0040】

【表6】

微生物	反応率(%)	光学純度(%)	立体配置
クリプトコッカス・フミコラス (Cryptococcus humicolus) IF0 0760	44	95	(S)
クリプトコッカス・フミコラス (Cryptococcus humicolus) JCM 1460	62	97	(S)

【0041】実施例12

A培地3 Lを含む5 L容ミニジャーファーマンターにクリプトコッカス・フミコラス(Cryptococcus humicolus) IF00760を植菌し、30℃、通気1 v v m、攪拌500 rpmにて24時間培養した。終了後、遠心分離により菌体を集め、750 mlの水に懸濁し、2-ブロモ-1-(3'-クロロフェニル)エタノン7.5 g、グルコース38 gを添加し、pHを1 N苛性ソーダ水溶液で7.0に保ちながら30℃、攪拌150 rpmで24時間反応させた。反応後、750 mlの酢酸エチルで2回抽出し、これを脱水し、減圧下脱溶剤し、油状物質を得た。このものを蒸留し(130℃/3 mmHg)、無色オイル状の(S)-2-ブロモ-1-(3'-クロロフェニル)エタノール2.5 gを得た。その比旋光度は $[\alpha]_D^{20}$ 24.5 (c=1, メタノール)を示し、HPLCによる光学純度は97% eeであった。
¹H-NMR δ ppm 2.88(br, 1H), 3.35~3.90(m, 4H), 4.90(d, 2H), 6.98~7.51(m, 4H)

参考例3

* 実施例3で得られた(R)-2-クロロ-1-(3'-クロロフェニル)エタノール2 gを等モル相当の40%苛性ソーダ水溶液、塩化メチレン10 mlと混合し、50℃で6時間反応した。冷却後、塩化メチレン10 mlを加え、有機層を飽和食塩水で洗浄し脱水濾過した後、塩化メチレンを脱溶剤し、粗エポキシド油状物を得た。このものを減圧蒸留(80℃、4 mmHg)により精製し、無色オイル状の(R)-3'-クロロステレンオキサイド1 gを得た。その比旋光度は $[\alpha]_D^{20}$ -67.5 (c=1)であった。

¹H-NMR(CDCl₃) δ ppm 2.63(dd, 1H), 3.15(dd, 1H), 4.17(d, 1H), 7.01~7.51(m, 4H)

【0042】

【発明の効果】本発明によれば、光学活性2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノールを効率的にかつ工業的規模で生産することが可能となる。得られる光学活性2-ハロ-1-(置換フェニル)エタノールは医薬品等の合成原料として有用な光学活性置換ステレンオキサイドへ容易に導くことができる。

フロントページの続き

(51)Int. Cl.⁶

識別記号

F I

(C 1 2 P 7/22

C 1 2 R 1:645)

(C 1 2 P 7/22

C 1 2 R 1:72)

(72)発明者 片岡 道彦

京都府京都市左京区一乗寺西水干町32-1
コスモ227

(72)発明者 和田 大

福井県吉田郡松岡町渡新田8-65 マイワ
タリ205号

(12)

特開平 1 1 - 2 1 5 9 9 5

(72)発明者 川端 潤
奈良県天理市富堂町 76- 3